

1. A kutatás célja, a munkatervben vállalt program

A korábbi (1998-2001) OTKA kutatás folytatásaként a természetvédelmi területbe beágyazódott, korábban művelés alatt álló területek spontán és emberi beavatkozással elősegített restaurációját tanulmányoztuk, figyelembe véve a föld feletti (vegetáció) és a föld alatti (talaj-közösség) ökoszisztémában zajló folyamatokat.

Az ökoszisztéma regenerációját különböző beavatkozásokkal (szerves C adagolás, kaszálás, magkeveréssel történő felülvetés) próbáltuk elősegíteni. Más restaurációs beavatkozásokat egyáltalán nem (pl. égetés, talaj felső réteg eltávolítás) vagy csak korlátozott mértékben (pl. legeltetés, vegyszeres gyomirtás) lehet az adott területen alkalmazni. Az 1998-ban elkezdett kombinált cukor vagy cukor és fűrészpor kezeléseket célja a talaj felvehető ásványi nitrogén tartalmának csökkentése volt. Szerves szénvegyületek talajba juttatásával a könnyen hasznosítható C:N arány eltolódik, a heterotróf mikrobiális közösség aktivitása fokozódik, ezáltal jelentős mértékben képes ásványi nitrogént kivonni a talajból. Az alacsonyan tartott felvehető N szint hipotézisünk szerint kedvező a természetes homoki fajok és kedvezőtlen a felhagyást követően betelepült gyomok számára. Bár a szerves anyagok talajba juttatását követő mikrobiális változásokról sokat tudunk, de pontosan az itt vázolt helyzetet még kevesen tanulmányozták.

A szabadföldi kísérletek és megfigyelések céljára rendelkezésre álltak állami tulajdonban és a Kiskunsági Nemzeti Park kezelésében lévő területek, amelyeken a mezőgazdasági művelést különböző időpontokban abbahagyták.

A közelben található természetes növénytakaró a homokpuszta gyepek (*Festucetum vaginatae danubiale*) endemikus társulása, – ahol még nagy számban találhatók védett növény és állatfajok – és ezekről a területekről várható a rekolonizáció.

A felhagyott területek egy részét jelentős mértékben borítják a zavarástűrő és kifejezetten szántóföldi gyomnak számító fajok. Közülük néhány – erőteljes virágpor kibocsátása miatt (*Ambrosia artemisiifolia*, *Artemisia* spp.) – erősen allergén hatású az emberre. Ez nemcsak a környék lakosságát, hanem a kiemelkedő turisztikai jelentőségű puszta látogatóit is veszélyezteti, ezért gazdasági érdek is kötődik a felhagyott területek restaurációjához.

1. Szénforrás kezelési kísérlet

A Fülöpháza melletti Fabóktanyán három területet jelöltünk ki a szénforrás adagolással serkentett N immobilizációs kísérlethez, még 1998-ban. A H (buckatető) a legszárazabb, szerves anyagban szegény, a növényi borítás gyér, a produkció alacsony. A D (buckaköz) nedvesebb, nagyobb szerves anyagtartalmú, a borítás és produkció is nagyobb. Ez a terület fekszik a legközelebb (kb. 50 méter) a betelepülési forrásnak számító természetes homokpusztagyephez. Az M a legnedvesebb, szerves anyagban viszonylag gazdag, nagy borítású és produktív terület.

10x10 méteres kísérleti parcellákat jelöltünk ki, melyben a kontroll és kezelt parcellák egyaránt 6-6 ismétlésben szerepeltek. A botanikai megfigyelések céljára minden parcellán belül három darab 2x2 méteres kvadrátot jelöltünk ki, a felvételezés évente 2-szer, májusban és szeptember elején történt. Egy közeli természetes homoki gyepek ún. referencia parcella vizsgálatát is elvégeztük.

Kezelésként április közepétől október közepéig vagy végéig adagoltuk a szénforrásokat felszíni kiszórással, 30 g/m² (H), 45 g/m² (D), 60 g/m² (M) alkalmanként, a fűrészport évente 2-3-szor, a cukrot 3-hetente (8-10-szer) adagoltuk, 2000 és 2003 között. 2004-től a szénforrás-kezelések utóhatását tanulmányoztuk.

Vizsgálatok: in situ cellulózlebomlási teszt, in situ N mineralizációs (ioncserelő) teszt, talajmintavétel (0-20 cm). A talajmintákból a következő elemzéseket végeztük: gravimetrikus talajnedvesség, felvehető ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$)-N, mikrobiális biomassza C, mikrobiális biomassza N. 2003-ban a kloroform fumigációs extrakciós módszerrel rendszeresen végzett elemzéseket kiegészítettük a kloroform fumigációs inkubációs és szubsztrát indukált respirációs (SIR) módszerekkel, továbbá alaprespirációt is mértünk. Ezen kívül 2004-ben foszfolipid analízist végeztünk néhány kiválasztott parcella gyökérközeli talajmintáiból két időpontban (tavasszal és ősszel), és közösségi DNS izolálás is ugyanezekből a mintákból történt. Továbbá a tenyésztethető heterotróf baktériumok számának meghatározását is elvégeztük (talajkivonat agaron), a kiválasztott reprezentatív törzsek ARDRA mintázatának, celluláris FAME, és 16S rDNS szekvencia sorrend alapján faji meghatározásuk céljából.

2. Kombinált restaurációs beavatkozások hatásának vizsgálata

A három kísérleti területet 2002. őszén felszántották, a kiindulási vegetációban meglévő különbségek felszámolása céljából. A következő kezeléseket és kezeléskombinációkat állították be mikroparcellákon latin négyzetes elrendezésben: 1. kontroll; 2. szénforrás (csak cukor) kezelés; 3. homokgyepi fajokkal való felülvetés; 4. kaszálás; 5. felülvetés + cukor-kezelés; 6. kaszálás + cukor-kezelés; 7. kaszálás + felülvetés; 8. cukor-kezelés + felülvetés + kaszálás. A cukor-kezelés háromhetente történt április közepétől októberig. A kísérlet talajmintáiból mikrobiális biomassza, aktivitás, foszfolipid mintázat elemzését végeztük el. A mikrobiális biomassza és aktivitás mérését a vegetációs időszak alatt kétszer, míg a foszfolipid elemzéseket egyszer végeztük el. A vegetációs időszak alatt 6-hetente vizsgáltuk az in situ N felvehetőséget ioncserelő műgyantával.

3. Természetes regeneráció vizsgálata

A másodlagos szukcesszió spontán folyamaiban megnyilvánuló törvényszerűségek elemzését a különböző időpontban felhagyott szántók vegetációs, talajtani és mikrobiológiai elemzésével próbáltuk összehasonlítani. A megfigyelési terület a Fülöpháza közelében lévő Szappanszéktől DNy-i irányban feküdt, ahol felhagyott tanyákhoz tartozó kisebb-nagyobb szántók (0,1 - 1 hektár) helyezkedtek el. A felhagyás időpontja alapján ezeket 4 korcsoportba sorolták. Összesen 16 helyről (korcsoportonként 4-4) vettünk talajmintát elkülönítve a felső 0-5 cm és az 5-20 cm rétegből. A minták kémiai elemzését 2003-ban elvégeztük. A viszonylag kis területen belüli homogén talajtípus ellenére a talaj kémiai jellemzők eléggé változatosan alakultak. A frissen szántott és a birkákkal gyakran legeltetett területek talaja a 0-20 cm rétegben viszonylag homogén volt, míg a régen nem bolygatott területeken a 0-5 cm rétegben humusz felhalmozódást tapasztaltunk. Ezt a képet árnyalja az eltérő felszíni relief és a növényzet típusa. A talajminták további mikrobiológiai talajbiológiai elemzésére azonban már nem került sor. Ennek több oka is volt, többek között az időközben történt pénzvonás, ami miatt csökkentenünk kellett az elvégzendő feladatokat.

2. Az elért kutatási eredmények összefoglalása

2.1. Laboratóriumi vizsgálatok cukor és fűrészpor talajhoz adása után

Laboratóriumi inkubációs kísérlet beállítása nem szerepelt eredeti terveink között. Egy brit-magyar TÉT együttműködés lehetővé tette, hogy a fülöpházi mintaterületről származó három talajminta felhasználásával laboratóriumi inkubációs kísérletet

állítsunk be nálunk a TAKI-ban és a stirlingi egyetemen. A fűrészpor is azonos volt a szabadföldi kísérletben alkalmazottal, kristálycukor helyett azonban nádcukrot használtunk, ami kémiai szintén szacharóz, de a stabil C12/C13 izotóparányukban eltérés van. A szabadföldi kísérletben alkalmazott C-forrás mennyiségeket illetve ezeknek többszörösét alkalmaztuk. Lehetőségünk volt egy 96 csatornás respirométerben nyomon követni a CO₂ képződés dinamikáját is.

A három területről (M, D és H) begyűjtött talajmintával végzett inkubációs kísérletek eredményei egyértelműen igazolták, hogy mind a nádcukor mind a fűrészpor és a kettő keveréke növelte a talajok CO₂ produkcióját, a mikrobiális C-t és N-t, ugyanakkor csökkentette a talajok NH₄⁺ és NO₃⁻ tartalmát. Ugyanúgy, mint a szabadföldi vizsgálatoknál a nitrát-N csökkenése sokkal markánsabban jelentkezett, mint az ammónium-N csökkenése. A CO₂ görbék lefutása azonban talajonként és szénforrásonként is különböző volt. A vizsgálataink azonban azt mutatták, hogy ezzel is óvatosan kell bánni, mert nagyobb mennyiségű fűrészpor már nem csökkenti, hanem növeli a felvehető N tartalmat a priming effektus miatt. Ez a szabadföldi kísérletünkénél nem mutatkozott, a kisebb mennyiségek alkalmazásakor. Ugyanakkor mások által nagyobb fűrészpor mennyiséggel végzett hasonló szabadföldi kísérletekben is talán egy esetben találkozhattunk ezzel a jelenséggel. Gyakorlati szempontból a költségek miatt a fűrészpor alkalmazása reálisabbnak tűnik, mint a cukoré, ezért fontos a szénforrás mennyiségének és az alkalmazás gyakoriságának elemzése.

2.2. Cukor és fűrészpor kezelés

A kezelések hatása

A 2000-2003 évek adatait kiértékelve megállapítottuk, hogy a rendszeres szénforrás-kezelések a talaj NH₄-N tartalmát 6%-kal a NO₃-N tartalmát 20%-kal csökkentették. Ugyanakkor a mikrobiális biomassza C, és a mikrobiális biomassza N átlagosan 20%-kal növekedett a kezelések hatására (a mikrobiális N a kezelt H területen nem különbözött szignifikánsan a kontrolltól). A mikrobiális C:N nem változott a kezelések hatására, ami azt jelentheti, hogy egyrészt nem képződött szerves N tartalék a mikrobiális biomasszában, másrészt valószínűleg a gombák és baktériumok részaránya sem változott meg számottevően. Ez azzal magyarázható, hogy a gyakran kiszáradó talaj feltételeihez legjobban alkalmazkodó spóráképző baktériumok is képesek a komplex szerves anyagok (cellulóz és lignin) lebontására éppen úgy, mint a szaprofita gombák. A talajnedvesség szignifikáns növekedése is megfigyelhető volt a legszárazabb mintaterületen, feltehetően a talaj felszínén felhalmozódó bomlatlan fűrészpor miatt. A N felvehetőség az ioncserélő műgyanta vizsgálatok szerint mind a három talajon a legtöbb időszakban szignifikánsan lecsökkent a szénforrás-kezelések hatására, kivéve a száraz periódusokat, ami azt jelzi, hogy a szénforrás-kezelés hatékonyságát a csapadék mennyisége illetve ebből adódóan a talajnedvesség nagymértékben befolyásolja. A növényzet változása évről-évre nagy szórást mutatott, a szénforrás-kezelés nem okozott szignifikáns eltérést a kontrollhoz képest. Egyedül a D területen mutatkozott meg tendencia jelleggel a szénforrás pozitív hatása a természetes növényzet visszatelepülésére. Ez azzal magyarázható, hogy ez feküdt legközelebb a propagulum forrást biztosító bolygatatlan gyepekhez. Ugyanakkor mind a három területen a kontroll parcellákban is megindult a spontán regenerálódás. Úgy tűnik, hogy ezt a folyamatot az évjárat (száraz - nedves) nagymértékben befolyásolja. Nem sikerült összefüggést találnunk a vizsgált változók és a rendelkezésünkre álló meteorológiai adatok között. Nincsen határozott szezonális dinamika sem, bár a legtöbb esetben kora tavasszal a

mikrobiális biotömegt kicsi volt, a legnagyobb pedig ősszel, feltehetőleg a nagyobb növényi tömeg és ezzel együtt a nagyobb gyökértömeg és a megnövekedett gyökérexudátumok mennyisége miatt (a két utóbbit nem vizsgáltuk, így ez csak feltételezés).

A kezelések utóhatása

A vizsgálataink az utolsó szénforrás-kezelést követő két évben (2004 és 2005) azt mutatták, hogy a SIR kivételével nincs különbség a korábban kezelt és kontroll parcellák mikrobiális biotömege és aktivitása között. A PLFA mintázatban azonban bizonyos mértékű különbséget tapasztaltunk mind a két mintavételi időpontban (június és szeptember), különösen a H (buckatető) talajában, ahol egyébként a korábbi évek vizsgálatai alapján a szénforrás kezelések általában nem okoztak szignifikáns eltérést a mikrobiális biotömege és aktivitásában. Ugyanakkor az M (rét) terület, ahol a legnagyobb különbség mutatkozott a mikrobiális biotömege és aktivitásában a kezelések hatására, a foszfolipid mintázatban alig mutatható ki eltérés. Érdekes még, hogy a PLFA mintázatban jellegzetes eltolódás következett be június és szeptember között a referencia gyepterület kivételével, ahol nem következett be változás. A változás lényege, hogy a talajban meglévő gomba dominancia lecsökkent, és mind a Gram pozitív, mind a Gram negatív baktériumok, az aktinobaktériumok és az AM gombák mennyisége növekedett. Az *in situ* N mineralizáció vizsgálata ioncserélő teszttel azt mutatta, hogy a N felvehetősége nem mutatott szignifikáns eltérést egyik területen sem, és egyik időpontban sem a kontroll és kezelt parcellák között. A talaj analízissel meghatározott kivonható ammónium és nitrát tartalmakban sem volt szignifikáns eltérés.

Ugyanezekből a talajmintákból az ELTE TTK Mikrobiológiai Tanszékén közösségi DNS-t vontunk ki és tisztítottunk sikeresen, azonban a 16 S rDNS amplifikációja 27f és 1442r primerekkel nem sikerült, annak ellenére sem, hogy többször, eltérő módszerekkel megismételtük. Ennek valószínűleg a talajban jelenlévő DNS-hez erősen asszociálódó anyag (fulvósav?) lehetett az oka. A másik ok a nagymennyiségű nembakteriális DNS jelenléte lehetett. A felszaporított 16 S rDNS DGGE módszerrel történő mintázat elemzése választ adhatott volna arra, hogy a bakteriális közösség szerkezete a talajokban különbözött-e. A mintákból kitenyésztett baktériumok növekedési sebessége alapján a referencia területen a K-stratégista baktériumok szignifikánsan nagyobb mennyiségben voltak jelen, mint a többi talajmintában. Az M területről származó kontroll és kezelt minta között nem volt különbség, míg a H területen a kontrollban nagyobb arányban volt K-stratégista baktérium, mint a kezeltben. A kitenyésztett baktériumok közül a *Streptomyces somaliensis*, és sok más *Streptomyces*, *Bacillus macroides*, *Bacillus megaterium* és egyéb *Bacillus* fajok és számos *Arthrobacter* faj dominált. Ezenkívül *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Sphingomonas*, *Xanthomonas* fajokat és a *Massilia timonae*-t (vagy egy ismeretlen fenantrén-bontó baktériumot) azonosítottunk. A baktérium izolátumok FAME dendrogramja, és 16 S rDNS dendrogramja hasonló mintázatú volt.

2.3. Kombinált (cukor-kezelés, kaszálás és magkeveréssel történő felületi restaurációs kísérletek

A kombinált restaurációs kísérlet eredményei azt mutatták, hogy a magkeveréssel történő felületi restauráció igen hatékony volt, alapvetően megváltoztatta a növényzet összetételét. Elsősorban a kaszálás, de a cukor kezelés is hozzájárult a nem kívánatos növények visszaszorulásához a magkeveréssel felületi restaurált parcellákon, ugyanakkor ez a

hatás a többi parcellán nem jelentkezett. A növényzet előretörése a felülvetett parcellákban egyértelmű volt, sőt a növények megszórásuk következtében kezdtek áttérjedni a szomszédos parcellákra is. A nitrogén hozzáférhetősége (ioncserélő zacskók alapján) a cukor-kezelések hatására lecsökkent éppen úgy, mint a másik területen a cukor és fűrészpor alkalmazásakor, de a cukor önmagában kevésbé bizonyult hatékonynak, mint a cukor és fűrészpor együttes alkalmazása. A kisebb állatok aktivitása is feltehetőleg befolyásolta a kapott eredményeket, melyek időnként kiugró értékben nyilvánultak meg. A kaszálás csökkentette a mikrobiális aktivitást és biomasszát is, ugyanakkor a foszfolipid mintázatot csak kis mértékben befolyásolta. A cukor-kezelések hatására a mikrobiális aktivitás és biomassza nem változott szignifikánsan, viszont a foszfolipid mintázatban jelentős változás következett be, ami a mikrobiális közösség összetételének megváltozására enged következtetni.

3. Az eredmények közlése folyóiratokban és konferenciákon

A lektorált folyóiratokban megjelent, illetve közlésre elfogadott publikációk száma 6, és további 3 cikk kézírata elkészült. Kettő szemlecikk az Agrokémia és Talajtan (A&T) folyóiratban jelent meg (Szili-Kovács 2004; Szili-Kovács és Tóth 2006), melyeknek a megírását jelen kutatás inspirálta. Egy további szemlecikk – beszámoló a Restaurációs Ökológiai Világkongresszusról –, szintén az A&T-ben jelent meg (Szili-Kovács et al. 2006). Egy további A&T cikkben (Szili-Kovács és Török 2005) a három mikrobiális biomassza meghatározási módszert hasonlítottuk össze és az ioncserélő műgyantával vizsgált N-felvehetőségi eredményeket mutattuk be. A kombinált kezelések eredményeit egy nívós lektorált, de impakt faktorral jelenleg nem rendelkező nemzetközi folyóiratban közzétettük (Halassy és Török 2004). A 2000 és 2003 közötti vizsgálatok eredményeit a "talajbiológia" szakterület második legrangosabb folyóiratában közzétettük (Szili-Kovács et al. 2007a). Ugyanezen időszak eredményeinek a szezonális változásaira koncentrál egy további A&T kézirat (Szili-Kovács et al. 2007b). A Magyarországon végzett laboratóriumi inkubációs kísérlet eredményeit mutatja be Szili-Kovács (2007), míg a stirlingi egyetemen végzett kísérlet eredményeit a Tilston et al. (2007) kézirat. Két absztrakt a lektorált Acta Microbiologica Hungarica et Immunologica folyóirat supplementum kötetében jelent meg. Lektorált konferencia kiadványban is megjelent négy írás. Előadásokat illetve posztereket mutattunk be 2003-ban, 2004-ben és 2005-ben a Magyar Mikrobiológiai Társaság Nagygyűlésein. 2004-ben a Talajtani Vándorgyűlésen Kecskeméten; 2004-ben a 16. Restaurációs Ökológia konferencián Kanadában, 2005-ben a Restaurációs Ökológiai Világkonferencián Zaragozában; 2006-ban az Európai Restaurációs Ökológiai Konferencián Greifswaldban. Egy szakdolgozat is elkészült és jeles eredménnyel értékelték az ELTE-n (Pohner Zs.). Egy másik, PhD munka elkészítése is folyamatban van, igaz ez inkább a kutatás botanikai oldalát dolgozza fel (Szabó R.).

4. A költségektől történő eltérések indoklása

Elsősorban a konferencia részvételhez kapcsolódóan történt túllépés, mivel azt nem tevéztük be megfelelően az egyéb költségek közé. A beruházások során a nehézséget az jelentette, hogy a szükséges összeg rendszerint csak az év vége felé halmozódott fel a szükséges szintig, akkor viszont a központi tartalékolási kötelezettség miatt okozott nehézséget ennek a felhasználása.

Hivatkozások

- Halassy M, Török K. 2004. Combination of treatments to restore native sand grassland species to black locust plantations (Hungary). *Ecological Restoration* 22: 217-218.
- Szili-Kovács T. 2004. Szubsztrát indukált respiráció a talajban. *Agrokémia és Talajtan* 53. 195-214.
- Szili-Kovács T., Török K. 2005. Szénforráskezelés hatása a talaj mikrobiális aktivitására és biomaszájára felhagyott homoki szántókon. *Agrokémia és Talajtan* 54. 149-162.
- Szili-Kovács T., Tóth J.A. 2006. A talaj mikrobiális biomsza meghatározása kloroform fumigációs módszerrel. *Agrokémia és Talajtan* 55. 515-530.
- Szili-Kovács T., Halassy M., Török K. 2006. European conference on Ecological restoration (2005. szeptember 12-18, Zaragoza, Spanyolország) *Agrokémia és Talajtan* 55. 559-562.
- Szili-Kovács T. 2007. Carbon addition and the extent of N immobilization in a sandy soil: Laboratory experiments. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.* (kézirat)
- Szili-Kovács T., Török K., Tilston E.L., Hopkins D.W. 2007a Promoting microbial immobilization of soil nitrogen during restoration of abandoned agricultural fields by organic additions. *Biology and Fertility of Soils* (DOI 10.1007/s00374-007-0182-1)
- Szili-Kovács T, Szabó R, Halassy M, Török K. 2007b Homokpusztagyepek természetvédelmi restaurációja a talaj-nitrogén immobilizációjával; 3. Mikrobiális biomsza C és N, ásványi N 2000-2003 között. *Agrokémia és Talajtan* (kézirat)
- Tilston E.L., Hopkins D.W., Szili-Kovács T. 2007. Carbon and nitrogen mineralization in soils amended with C-rich compounds to reduce N availability as part of a strategy for restoring abandoned agricultural land to native grassland (kézirat).